

## Evaluation of Interfering Substances in Routine Chemistry Tests Using Toshiba TBA-C8000 Chemistry Analyzer

Jum Gi Park<sup>1</sup> and Kyeng Woong Joo<sup>2</sup>

*Department of Laboratory Medicie, Daejeon Veterans Hospital, Daejeon 306-830, Korea<sup>1</sup>*

*Department of Clinical Pathology, Gwangju Health College, Gwangju 506-701, Korea<sup>2</sup>*

In clinical chemistry tests, the interfering substances such as hemoglobin, lipid, bilirubin, and drugs, etc. can cause the changes of test results performed by spectrophotometrical methods. We evaluated the effects of interfering substances on the test results by adding interfering substances on the samples in the 19 kinds of clinical chemistry tests such as aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, gamma-glutamyltransferase, total protein, albumin, glucose, total cholesterol, total bilirubin, triglyceride, uric acid, calcium, inorganic phosphours, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, creatinine, blood urea nitrogen, and C-reactive protein using newly implemented automatic chemical analyzer Toshiba TBA-C8000 under the direction of CLSI EP07-A guideline. Hemolytic samples show increased concentration of total protein, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and lactate dehydrogenase and reduced concentration of total bilirubin, alkaline phosphatase by interfering effect. Hyperlipemic samples show increased concentration of total protein and alkaline phosphatase and reduced concentration of low density lipoprotein cholesterol. The samples with conjugated bilirubinemia show increased concentration of inorganic phosphours, otherwise the samples with unconjugated bilirubinemia show no interference or allowable range in the test result.

**Key Words** : CLSI EP07-A, Interference, Toshiba-C8000

### 서 론

용혈, 고지혈증, 황달, 약물 등에 의한 간섭 물질이 분석 시료 속에 존재하면 광학적 방법으로 시행되는 검사 결과에 계통오차를 일으켜(Kroll과 Elin, 1994). 분석하고자 하는 물질의 농도에 무관하게 주어진 간섭물질의 농도는 일반적으로 그 양만큼 계수 계통오차를 일으킨다. 따라서 간섭물질의 농도가 변하면 오차의 크기도 자연히 변한다(문과 장, 2004). 따라서 새로운 분석장비를 도입할 때는 임상검체 중

에 존재할 수 있는 이들 간섭물질에 대한 분석 평가가 선행되어야 한다. 화학분석기 TBA-C8000 장비(Toshiba Medical Systems Ltd, Tokyo, Japan)를 이용하여 일반 화학검사 19종에 대한 용혈, 고지혈증, 황달(포합형 황달, 불포합형 황달) 등의 간섭 물질에 대한 평가를 실시하여 계통오차의 크기를 평가하였으며, 임상에 적용해 재 채혈에 따른 환자의 부담과 검사 보고시간 단축을 위한 전략을 고찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재료

간섭물질은 상품화된 bilirubin C (340 mg/dL), bilirubin F (300 mg/dL), hemoglobin (5000 mg/dL), 그리고 Intrafat (Denka Seiken Ltd, Kobe, Japan) 원액을 type 1 멸균증류수로 용해 또는 희석 후 사용하였다. 장비는 TBA-C8000

Corresponding author: Park, Jum Gi. Department of Laboratory Medicie, Daejeon Veterans Hospital, Daejeon 306-830, Korea.  
TEL : 042-939-0405, 010-7907-4300.  
E-mail : jumgipark@hanmail.net

Received : 17 February 2011  
Return for modification : 14 March 2011  
Accepted : 23 March 2011

**Table 1.** The analytical methods adopted by Toshiba C8000

Items	Methods	Manufactures of reagents
BUN	Urease with GLDH (Coupled Enzymes)	DENKA SEIKEN
Glucose	Hexokinase, UV	DENKA SEIKEN
Calcium	Cresolphthalein complexone	DENKA SEIKEN
Creatinine	Kinetic alkaline (Jaffe reaction)	DENKA SEIKEN
T-Bilirubin	Oxidation	DENKA SEIKEN
Protein	Biuret	DENKA SEIKEN
Albumin	BCG	DENKA SEIKEN
Cholesterol	Enzymatic	KYOWA MEDEX
TG	Enzymatic (glycerol phosphate oxidase) without glycerol blank without sample blank	KYOWA MEDEX
AST	UV without P5P	DENKA SEIKEN
ALT	UV without P5P	DENKA SEIKEN
ALP	PNPP, DEA buffer	DENKA SEIKEN
GGT	G-glutamyl-carboxy-nitroanilide (IFCC, 37°C)	DENKA SEIKEN
UA(S)	Uricase	DENKA SEIKEN
LDH	Pyruvate to lactate	DENKA SEIKEN
L-HDL-C	Modified enzymatic	KYOWA MEDEX
L-LDL-C	Selective solubilization	KYOWA MEDEX
IP	Phosphomolybdate, UV	HANLAB
CRP	TIA	DENKA SEIKEN

Abbreviations. BUN, blood urea nitrogen; GLDH, glutamate dehydrogenase; UV, ultra-violet; T-Bilirubin, total bilirubin; BCG, bromocresol green; TG, triglyceride; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; PNPP, p-nitrophenylphosphate; GGT, gamma-glutamyltransferase; UA(S), serum uric acid; LDH, latic dehydrogenase; L-HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; L-LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; IP, inorganic phosphorus; CRP, C-Reactive Protein; TIA, turbidometric immunoassay

(Toshiba Medical Systems Ltd, Tokyo, Japan) 화학분석기를 이용하였다. 기초혈청으로는 환자 검체를 통합하여 사용하였다. 측정종목은 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyltransferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRE), glucose (GLU), inorganic phosphorus (IP), triglyceride (TG), uric acid (UA), total bilirubin (T-BIL), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (T-CHO), total protein (TP), albumin (ALB), calcium (CAL), latic dehydrogenase (LDH), C-Reactive Protein (CRP) 등 19 종목을 평가 하였고 측정

원리는 Table 1과 같다.

## 2. 방법

CLSI EP07-A 지침에 따라 임상적 판단에 중요한 정상 농도의 기초통합혈청으로는 정상 농도의 환자 검체를 통합하였고 여기에 4 가지 간섭물질들을 9:1 비율로 혼합하여 bilirubin C 34 mg/dL, bilirubin F 30 mg/dL, hemoglobin 500 mg/dL, Intrafat 3000 mg/dL의 농도가 되도록 희석하여 시험검체로 하였다. 기초통합혈청에 0.95% 생리식염수를 9:1 비율로 혼합하여 대조검체로 제조하였고, 평가 항목 당 각각 3 회씩 반복 측정 하였다. Paired difference test를 실시한 후 95% 신뢰구간을 계산하고(Table 2), 시험 검체와

Table 2. The results of paired difference test with interferences

Analytes (unit)	Hemoglobin			Bilirubin (C)			Bilirubin (U-C)			Lipid		
	Mean		95% CI of difference	Mean		95% CI of difference	Mean		95% CI of difference	Mean		95% CI of difference
	Control	Test		Control	Test		Control	Test		Control	Test	
Cal (mg/dL)	9.2	9.45	0.12-0.40	9.17	9.4	-0.15-0.61	9.1	9.26	-0.01-0.28	8.9	9.2	0.29-0.32
Bun (mg/dL)	16.53	16.57	-0.59-0.66	16.47	16.37	-0.34-0.14	16.6	16.4	-0.68-0.35	16.3	16.8	-0.59-1.65
Cre (mg/dL)	1.31	1.38	-0.08-0.22	1.31	1.22	-0.12--0.06	1.31	1.2	-0.14--0.08	1.2	1.3	-0.09--0.88
T-bil (mg/dL)	0.71	0.62	-0.12--0.06	ND	ND		ND	ND		0.71	0.82	0.07-0.14
Tp (g/dL)	7	8.17	1.02-1.31	7.07	7.12	-0.09-0.199	7.07	7.2	-0.01-0.28	7.01	8.81	1.75-1.83
Alb (g/dL)	4	4.26	0.12-0.41	4.04	4.3	0.15-0.38	4.03	4.4	0.22-0.51	4.02	4.21	0.16-0.22
UA (mg/dL)	4.9	4.97	-0.08-0.21	4.93	4.77	-0.31--0.02	4.98	4.97	-0.03-0.00	4.88	4.82	-0.23-0.11
Glu (mg/dL)	121.1	121.1	-0.32-0.25	121	123	-0.48-4.48	122	124	1.75-2.24	121	121	-2.48-2.48
AST (IU/L)	24	51.3	28.9-31.77	23.7	24.1	-0.79-1.65	24	24.3	-1.1-1.77	24	24.6	-0.76-2.1
ALT (IU/L)	13.1	16.2	2.78-3.35	13.1	12.7	-1.66-0.79	13	12.7	-3.54-2.20	13	13.7	-0.77-2.1
LDH (IU/L)	290	1462	1164-1180	291	293	-1.2-4.54	295	294	-8.5-5.83	291	291.7	-9.37-10.71
ALP (IU/L)	235.8	225.8	-12.59--7.37	238	237	-1.77-1.1	239	239	-2.48-2.48	234.3	244	6.79-12.53
GGT (IU/L)	164	165.7	-0.1-2.77	46.7	46.2	-3.34-2.41	45.7	45.7	-2.48-2.48	46	45.7	-1.77-1.1
T-cho (mg/dL)	164	165.7	-3.97-5.97	163	162	-5.13-2.46	166	162	-5.13-2.46	163	167.7	0.87-8.46
TG (mg/dL)	117	118	-1.48-3.48	118	113.7	-6.1--3.23	119	119	-3.2-2.53	ND	ND	
HDL-C (mg/dL)	44.6	44.3	-1.77-1.10	45	43	-2.35--1.86	45	45	-0.45-0.05	44.3	43	-2.77-0.1
LDL-C (mg/dL)	91	92.7	-0.1-2.77	92	92	-3.2-2.54	92	94	0.23-3.1	91	76.7	-15.77--12.9
CRP (IU/L)	9.48	9.16	-0.9-0.26	9.37	9.37	-1.41-1.43	9.52	9.57	-0.87-0.98	9.2	8.97	-1.17-0.71
IP (mg/dL)	3.52	3.6	1.0887-1.1646	3.53	5.94	2.37-2.45	3.51	3.62	0.00-0.2	3.46	3.11	-0.37~-0.32

Abbreviations: Cal, calcium; BUN, blood urea nitrogen; Cre, creatinine; T-bil, total bilirubin; Tp, total protein; Alb, albumin; UA, uric acid; Glu, glucose; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactic dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; GGT, gamma-glutamyltransferase; T-cho, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; CRP, C-Reactive Protein; IP, inorganic phosphorus; ND, not done

대조 검체의 평균 차이가 각 검사항목의 검사 내 표준편차 값의 1.13배 이상의 차이를 보이는 경우를 간섭 영향이 있다고 판정하였다(우 등, 2006). 간섭이 있다고 판정된 항목은 시험 검체와 대조 검체를 0/5(0%), 1/4(20%), 2/3(40%), 3/2(60%), 4/1(80%), 5/0(100%) 로 희석하여 어느 농도 수준에서부터 간섭이 발생하는지를 평가 하였다.

### 3. 통계

SPSS Version 11.5 software (SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 paired-difference test를 실시하고 95% 신뢰구간과 표준 편차를 계산하고 간섭영향을 평가하였다

## 결 과

Paired difference test를 실시하여 95% 신뢰구간과 시험 검체와 대조 검체의 평균 값의 차이, 각 검사항목의 검사 내 표준편차 값을 분석한 결과 lipemic에 의한 간섭은 protein 25.7%(Table 3)와 ALP 3.8%의 양성간섭을(Table 4) 보였으며, LDL-C은 15.4%의 음성간섭을(Table 5) 보였다. 혈액색소에 의한 양성 간섭은 protein에서 용혈농도 100 mg/dL, 에서 5.7%의 양성 간섭을 보이기 시작하여 매 단계마다 5%의 상승을 보여 500 mg/L,에서는 25.7%의 양성 간섭을 보였다(Table 6). GOT는 500 mg/dL,용혈 단계까지 4.2%의 양성 간섭을(Table 7), GPT는 100 mg/dL,에서 7.7%의 양성 간섭을 보이기 시작하여 500 mg/dL에서는 23.1%의 양성 간섭을(Table 8) 보였으며, 특히 LDH는 미세한 용혈에서도 양성 간섭이 발생하여 검사결과에 심각한 양성오차를 일으켜 500 mg/dL의 용혈에서 400%이상의 양성간섭을 보였다(Table 9). 음성 간섭은 T-bilirubin에서 14.3%(Table 10), ALP는 용혈농도 200 mg/dL에서 3.6%의 음성간섭을 보이기 시작하여 500 mg/dL에서 4.2%의 음성 간섭이 있었다(Table 11). 포합형 황달은 황달 6.0 mg/dL 농도에서 phosphorous 13.3%의 양성 간섭을 보이기 시작하여 황달 30 mg/dL농도에서 65.3%의 양성 간섭을 보였으나(Table 12), 불포합형 bilirubin에 의해 정상 농도범위에서는 간섭이 없었다.

**Table 3.** Positive interference of total protein by lipemic

Unit (%)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	7.0	7.0	7.0	100.0
1	7.4	7.4	7.4	105.7
2	7.7	7.7	7.7	110.0
3	8.1	8.0	8.1	115.0
4	8.4	8.4	8.4	120.0
5	8.8	8.8	8.8	125.7

**Table 4.** Positive interference of ALP by lipemic

Unit (%)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	235.0	235.0	235.0	100.0
1	237.0	235.0	236.0	100.4
2	240.0	238.0	239.0	101.7
3	241.0	240.0	240.5	102.3
4	242.0	242.0	242.0	103.0
5	244.0	244.0	244.0	103.8

**Table 5.** Negative interference of LDL-C by lipemic

Unit (%)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	92.0	90.0	91.0	100.0
1	88.0	87.0	87.5	96.2
2	85.0	84.0	84.5	92.9
3	81.0	82.0	81.5	89.6
4	79.0	80.0	79.5	87.4
5	77.0	76.0	76.5	84.1

**Table 6.** Positive interference of total protein by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	7.0	7.0	7.0	100.0
100	7.4	7.4	7.4	105.7
200	7.7	7.7	7.7	110.0
300	8.1	8	8.1	115.0
400	8.4	8.4	8.4	120.0
500	8.8	8.8	8.8	125.7

**Table 7.** Positive interference of GOT by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	24.0	24.0	24.0	100.0
100	24.0	25.0	24.5	102.1
200	25.0	25.0	25.0	104.2
300	25.0	25.0	25.0	104.2
400	25.0	25.0	25.0	104.2
500	25.0	25.0	25.0	104.2

**Table 8.** Positive interference of GPT by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	13.0	13.0	13.0	100.0
100	14.0	14.0	14.0	107.7
200	15.0	15.0	15.0	115.4
300	15.0	16.0	15.5	119.2
400	16.0	15.0	15.5	119.2
500	16.0	16.0	16.0	123.1

**Table 9.** Positive interference of LDH by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	291.0	293.0	292.0	100.0
100	531.0	531.0	531.0	181.8
200	770.0	771.0	770.5	263.9
300	1007.0	999.0	1003.0	343.5
400	1238.0	1228.0	1233.0	422.3
500	1464.0	1467.0	1465.5	501.9

**Table 10.** Negative interference of t-bilirubin by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	0.7	0.7	0.7	100.0
100	0.6	0.6	0.6	85.7
200	0.6	0.6	0.6	85.7
300	0.6	0.6	0.6	85.7
400	0.6	0.6	0.6	85.7
500	0.6	0.6	0.6	85.7

**Table 11.** Negative interference of ALP by hemoglobin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	235.0	236.0	235.5	100.0
100	231.0	229.0	230.0	97.7
200	226.0	228.0	227.0	96.4
300	227.0	226.0	226.5	96.2
400	227.0	227.0	227.0	96.4
500	225.0	226.0	225.5	95.8

**Table 12.** Positive interference of phosphorous by conjugate bilirubin

Unit (mg/dL)	Test1 (g/dL)	Test2 (g/dL)	Mean (g/dL)	Recovery (%)
0	3.6	3.6	3.6	100.0
6	4.0	4.1	4.1	112.5
12	4.5	4.5	4.5	125.0
18	5.0	5.0	5.0	138.9
24	5.5	5.5	5.5	152.8
30	6.0	5.9	6.0	165.3

## 고 찰

간섭 물질 영향 평가 기준은 평가자에 따라 CLSI EP07-A 지침(2008)에 의한 방법과 CLIA 88에 의한 방법이 이용되는데 CLIA 88에 의한 평가는 허용범위가 넓어서 CLSI EP07-A 지침에 의한 방법을 사용하였다. 간섭물질이 포함된 검체는 다양한 화학적 분석에서 오류를 나타내기 때문에 CLSI EP07-A 지침에서는 간섭물질에 대한 평가를 실시할 것을 권장하였다, 평가할 각 간섭물질의 농도로는 bilirubin 30 mg/dl, hemoglobin 500 mg/dl, lipemic 3000 mg/dl,를 제시하였으며, 저농도와 고농도 환자검체를 통합하여 각각의 농도별로 평가할 것을 권장하였으나 본원에서는 종목별 고농도 환자검체를 수집하기 어려워 정상 농도의 환자 검체만 통합하여 사용하였다. CLSI EP07-A의 시험 검체 희석 방법은 통합혈청에 간섭물질을 19:1 비율로 혼합하여 평가하여야 하나 이번에 사용된 상품화된 평가 물질의 농도가 bilirubin C 340 mg/dl, bilirubin F 300 mg/dl, hemoglobin

5000 mg/dl, Intrafat 원액 으로 19:1의 비율로 희석하면 권장 희석농도에 미치지 못하여 권장 희석농도보다 높거나 같아야 한다는 지침에 맞게 각각의 평가물질을 생리 식염수로 9:1로 희석함으로써 CLSI EP07-A의 검체 희석 방법 일치하게 하였다. 우 등(2006)은 일반화학 32항목(16항목에서 각각 2가지농도)에 대하여 3가지 간섭 물질, 혈색소, 황달, 고지혈의 간섭에 영향을 받는 항목이 각각 8항목(25.0%), 5항목(15.6%), 5항목(15.6%)이라고 발표 하였는데 본 연구에서도 시험한 19 항목 중 혈색소에 대하여 6항목(31.6%), 고지혈증은 3항목(15.8%), 황달이 1항목(5.3%) 순으로 간섭이 발생하여 용혈 검체에 의한 혈색소가 간섭현상에 가장 큰 영향을 주었다. 혈색소에 의한 간섭 영향 중에서도 LDH는 혈구 내 분포가 혈장의 200배로(이와 권, 2000) 알려져 있어, 미세한 용혈에서도 급격한 양성 간섭이 일어날 수 있기 때문에 검체 관리에 세심한 주의가 필요하다. 전해질은 평가 물질의 희석액이 생리식염수로 한정되어 있어 평가는 생략하였지만 potassium의 경우 혈구 내 농도가 혈장에 비해 23배가 높으므로 양성간섭이 있으리라 추정된다. 정 등(2008)은 고농도의 황달 검체는 creatinine 측정 시 헤모글로빈 분해 산물이 강 알칼리에 산화되어 무색의 화합물을 형성함으로써 흡광도를 감소시켜 creatinine 농도가 실제 값보다 저하되는, 소위 Jaffelike chromogen에 의한 음성 간섭이 나타나 황달 농도가 24 mg/dL에서는 creatinine 농도가 0.8 mg/dL 정도 낮게 측정된다고 하였으나, 본 연구에서는 포합형 황달(26.6 mg/dL)과 불포합형 황달(24.8 mg/dL) 모두에서 예상되던 음성간섭이 일어나지 않았는데 이는 상 품화된 간섭물질로 인한 matrix effect로 생각되어 추후 황달이 심한 환자 검체로 재검토가 필요하며 4가지 간섭 물질의 간섭 영향이 허용범위 이내 이거나 없는 종목은 BUN, glucose, creatinine, calcium, albumin, total cholesterol, TG, GGT, uric acid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, CRP 등이었다.

따라서 내원하는 외래 환자의 임상화학 검사 결과보고 시 검체의 상태에 따라 다음과 같은 예문들을 첨부 하면 임상

의 진단에 도움을 주며 재 체혈에 따른 환자의 부담과 검사 결과 보고 시간을 최소화 할 수 있다고 판단된다.

예문 1. 고농도의 lipemic 검체입니다. Total protein 26%, ALP 4%의 양성간섭이 LDL-C은 15.4%의 음성 간섭이 있었습니다.

예문 2. 고농도의 용혈 검체입니다. Total bilirubin 14.3%, ALP 4.2%의 음성 간섭과 total protein 26%, GOT 4.2%, GPT 23%, LDH 402% 의 양성 간섭이 있었습니다.

예문 3. 고농도의 황달 검체입니다. Phosphorous 65% 의 양성 간섭이 있었습니다.

예문 4. 중간농도의 lipemic 검체입니다. Total protein 15%, ALP 2%의 양성간섭이 LDL-C 10.4%의 음성 간섭이 있었습니다.

예문 5. 중간농도의 용혈 검체입니다. Total bilirubin 14.3%, ALP 3.8%의 음성 간섭과 total protein 15%, GOT 4.2%, GPT 19%, LDH 243% 의 양성 간섭이 있었습니다.

예문 6. 중간농도의 황달 검체입니다. Phosphorous 39% 의 양성 간섭이 있었습니다.

## 참고문헌

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Propose Guideline EP07-A. 2008, Wayne, pa: Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem*. 1994, 40:1996-2005
3. 문혜란, 장상우, 6시그마 정도경영 2. 2004, p181-183, 홍출판사, 서울.
4. 이귀녕, 권오현. 임상병리과일. 제3판, 2000, p373-376, 의학문화사, 서울
5. 우희연, 김영재, 박효순. 자동화학 검사용 Hisense 시약의 평가. *임상검사와정도관리*, 2006, 28:189-198.
6. 정희정, 전사일, 민원기. 간섭효과를 최소화하는 크레아티닌 측정법. *임상검사와정도관리*, 2008, 30:229-231.